

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Untersuchungen zur
hyaluronidasehemmenden Wirkung des
2-(β -Chloräthyl)-2,3-dihydro-4-oxo-
(benzo-1,3-oxazin)

(Zugleich ein Beitrag zur Wirkungsweise)

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin,
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

URSULA GERSON

1961



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

**Untersuchungen zur
hyaluronidasehemmenden Wirkung des
2-(β -Chloräthyl)-2,3-dihydro-4-oxo-
(benzo-1,3-oxazin)**

(Zugleich ein Beitrag zur Wirkungsweise)



INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin,
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

URSULA GERSON

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. H. [REDACTED] Eyer

Tag der Mündlichen Prüfung: **14.3.61**



Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Versuche	5
Methodik	5
Versuchsreihe 1	7
Versuchsreihe 2	7
Versuchsreihe 3	7
Versuchsreihe 4	15
Berechnung und statistische Auswertung	15
Diskussion	29
Zusammenfassung	31
Literaturverzeichnis	32

Problematik

Nachdem M a t h i e s (1-5) und Mitarbeiter (6-9) durch ihre Untersuchungen wertvolle Beiträge zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus hyaluronidasehemmender Substanzen leisten konnten, wurde eine neue Substanz, 2-(β -Chloräthyl)-2,3-dihydro-3-oxo-(benzo-1,3-oxazin), bei der eine hyaluronidasehemmende Wirkung vermutet wurde, in der vorliegenden Arbeit in ähnlicher Weise untersucht.

M a t h i e s (1-5) und Mitarbeiter (6-9) haben am Beispiel der Acetylsalicylsäure (1,2,6), des Phenylbutazons (3,7), des Prednisolons (als Vertreter der Glukokortikoide) (4,8) und auch der Moorbäder (5,9) zeigen können, daß ihre bei intakten Ratten nachweisbare Hyaluronidasehemmung bei adrenaletomierten Tieren ausfällt bzw. negative Werte annimmt, während bei hypophysektomierten Ratten die Hyaluronidasehemmung erhalten ist. Es konnte aus diesen Untersuchungen zunächst geschlossen werden, daß die Nebenniere für die Hyaluronidasehemmung durch die geprüften Substanzen notwendig ist. Nun hat aber D o m e n j o z (10) am Beispiel der Acetylsalicylsäure, des Phenylbutazons und anderer hyaluronidasehemmender Substanzen zeigen können, daß die bei intakten Ratten nachweisbare Abnahme des Ascorbinsäure- und Cholesteringehaltes der Nebenniere, die als Maßstab für die inkretorische Aktivität der Rinde anzusehen ist, bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt. Da nach den Versuchen von M a t h i e s (1-5) und Mitarbeitern (6-9) aber bei den hypophysektomierten Ratten gleichzeitig die hyaluronidasehemmende Wirkung erhalten ist, wurde daraus geschlossen, daß die inkretorische Funktion nicht, wie vielfach für die therapeutische Wirkung angenommen, für die Hyaluronidasehemmung erforderlich ist. Es blieb demnach anzunehmen, daß die Hyaluronidasehemmung der betreffenden Substanzen über eine Nebennierenmark-Funktion mit einer Katecholaminausschüttung läuft. Diese Folgerung konnte durch Versuche von M a t h i e s (11) und Mitarb. (12-14) erhärtet werden, nach denen bei intakten Ratten die Hyaluronidasehemmung nach Natriumsalicylat (12), Prednisolon (13) und Moorbädern (14) durch Ergotamin als Adrenolyticum

aufgehoben werden konnte. Eine weitere Stütze erfuhr die erwähnte Annahme durch die ebenfalls von M a t h i e s (2,15, 16) und Mitarb. (6,17) erhobenen Befunde einer Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin und Noradrenalin bei adrenalektomierten Ratten. Auch konnten die Autoren (3,4,18-23) durch Bestimmungen des Katecholamingehaltes der Nebennieren bei verschiedenen hyaluronidasehemmenden Substanzen die Ausschüttung der Katecholamine sichtbar machen.

Es sollte im Rahmen der hier vorgelegten Untersuchungen zunächst die hyaluronidasehemmende Wirkung des Chloraethylbenz-methoxazons allgemein bei intakten Ratten nachgewiesen werden. Ferner sollten die Versuche bei adrenalektomierten und hypophysektomierten Ratten wiederholt werden, um im Falle eines positiven Nachweises einer hyaluronidasehemmenden Wirkung der Substanz zu klären, ob der gleiche Wirkungsmechanismus wie unter den von M a t h i e s (1-5) u. Mitarb. (6-9) bereits geprüften Substanzen anzunehmen ist.

Dem 2-(β -Chloraethyl)-2,3-dihydro-4-oxo-(benzo-1,3-oxazin), für das die chemische Kurzbezeichnung Chloraethylbenz-methoxazon gewählt wurde, soll eine analgetische, antiphlogistische und antipyretische Wirksamkeit zukommen, die es wirkungsmäßig zwischen die Pyrazole und die Salicylate stellt (K a d a t z 24). Im Urin findet man innerhalb 53 Stunden 75 % der oral verabfolgten Substanz als Gesamtsalicylat und Gesamtgentisat wieder. Auffallend ist der hohe Gesamtgentisatanteil von 18 % (B e i s e n h e r z u. Mitarb. (25)).

Eigene Versuche

Methodik

Die Hyaluronidaseaktivität wurde an der Ausbreitung einer Farbstoff- bzw. einer Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor und zu verschiedenen Zeiten nach i.p.-Applikation des Chloraethylbenz-methoxazon ermittelt. Hierzu wurde die Bauchhaut männlicher weißer Ratten im Gewicht von 185 bis 270 g 48 Stunden vor dem Versuch mit Pilca in Aethernarkose enthaart. Die Versuche selbst wurden in Evipan-Natrium-Narkose (30 mg/100 g Tier s.c.)

durchgeführt. Ein Einfluß von Barbituraten auf die Aktivität der Hyaluronidase besteht nach W i l h e l m i (26) nicht. Die reine Farbstoffquaddel wurde mit 0,1 ccm einer 0,6 %igen Evensblau-Lösung gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln wurden in 2 ccm der eben angegebenen 0,6 %igen Evensblau-Lösung 150 IE Hyaluronidase (Kinetin) gelöst, so daß bei der intracutanen Injektion von 0,1 ccm 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen. Die Quaddeln müssen streng intracutan gesetzt werden. Um einen Rückfluß der Lösung durch den Stichkanal zu vermeiden, muß die dünne Kanüle (Nr. 20) mindestens 1 cm intracutan vorgeschoben werden. Ausgewertet wurde die 10 Minuten nach Injektion erreichte Ausbreitung der Farbstoff-Flecken, da nach M a d i n a v e i t i a (27) in dieser Zeit das Spreading ein reiner Hyaluronidase-Effekt ist. Nach diesem Zeitpunkt dürften Resorptionsmechanismen im Vordergrund stehen. Die Ausbreitung der Flecken wurde durch Übertragung der Konturen auf Zelluloidstreifen und anschließende planimetrische Ausmessung bestimmt. Naturgemäß zeigt die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine weitaus raschere Ausbreitung als die reine Farbstoffquaddel. Dagegen weist die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine Hemmung der Ausbreitung auf, wenn vorher eine hyaluronidasehemmende Substanz appliziert wird.

Chloraethylbenzmethoxazon wurde in den Vorversuchen (Versuchsreihe 1) zu 10 mg/100 g Tier, in den Hauptversuchen (Versuchsreihe 2-4) zu 20 mg/100 g Tier intraperitoneal appliziert.

Die Adrenalektomien wurden 48 Stunden vor dem Versuch in Aethernarkose durchgeführt. Nach Untersuchungen des Thorn-Testes und nebennierenbedingten Grundumsatzes durch K a r g (28), sowie nach histologischen Versuchsergebnissen von B a c h m a n n (29) und C a n a l i s (30) ist im Verlauf von 2 Tagen eine Regeneration frunktionstüchtigen akzessorischen Nebennierengewebes kaum zu befürchten. Die adrenalektomierten Ratten wurden kohlehydratreich ernährt und erhielten physiologische NaCl-Lösung als Trinkflüssigkeit. Die Hypophysektomien wurden ebenfalls 48 Stunden vor Versuchsbeginn in Aethernarkose parapharyngeal vorgenommen und der Erfolg im Anschluß an den Versuch histologisch kontrolliert. Die Tiere erhielten eine 2 %ige

Rohrzuckerlösung als Trinkflüssigkeit. Eine besondere Diät erübrigte sich bei der Kürze der Versuchsdauer.

Versuchsreihe 1 (a-e)

Es wurde bei intakten Ratten nach oben angegebener Methode die Hyaluronidasehemmung 15', 30', 45', 60' und 90' nach intraperitonealer Injektion von 0,01 g Chloraethylbenzmethoxazon / 100 g Tier bestimmt, die Ergebnisse, die in den Tabellen 1 - 6 und Abbildung 1 dargestellt sind, zeigen eine Hyaluronidasehemmung, die allerdings nur 30' nach Injektion statistisch schwach gesichert werden konnte. Es war bei dieser Dosierung eine gewisse Unsicherheit in dem zu erzielenden Effekt zu vermuten, weshalb die Chloraethylbenzmethoxazon-Dosis in den folgenden Versuchen erhöht wurde.

Versuchsreihe 2 (a-e)

Bei ebenfalls intakten Ratten wurde die Hyaluronidasehemmung 15', 30', 45', 60' und 90' nach intraperitonealer Injektion von 0,02 g Chloraethylbenzmethoxazon/100 g Tier ermittelt. Die Ergebnisse in Tabelle 7 - 12 und Abbildung 1 zeigen eine etwa gleich starke aber länger anhaltende und statistisch mit einer geringeren Irrtumswahrscheinlichkeit belastete Hemmung der Hyaluronidaseaktivität von maximal 34,9 %.

Versuchsreihe 3 (a-b)

Bei adrenaletomierten Ratten wurde 30' und 45' nach Injektion von 0,02 g Chloraethylbenzmethoxazon, also zu den Zeiten, die bei intakten Ratten die stärksten Hemmwerte zeigen, ebenfalls die Hyaluronidasehemmung festgestellt. Die Ergebnisse in Tabelle 3 und Abbildung 2 lassen erkennen, daß bei adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung nicht zustandekommt.

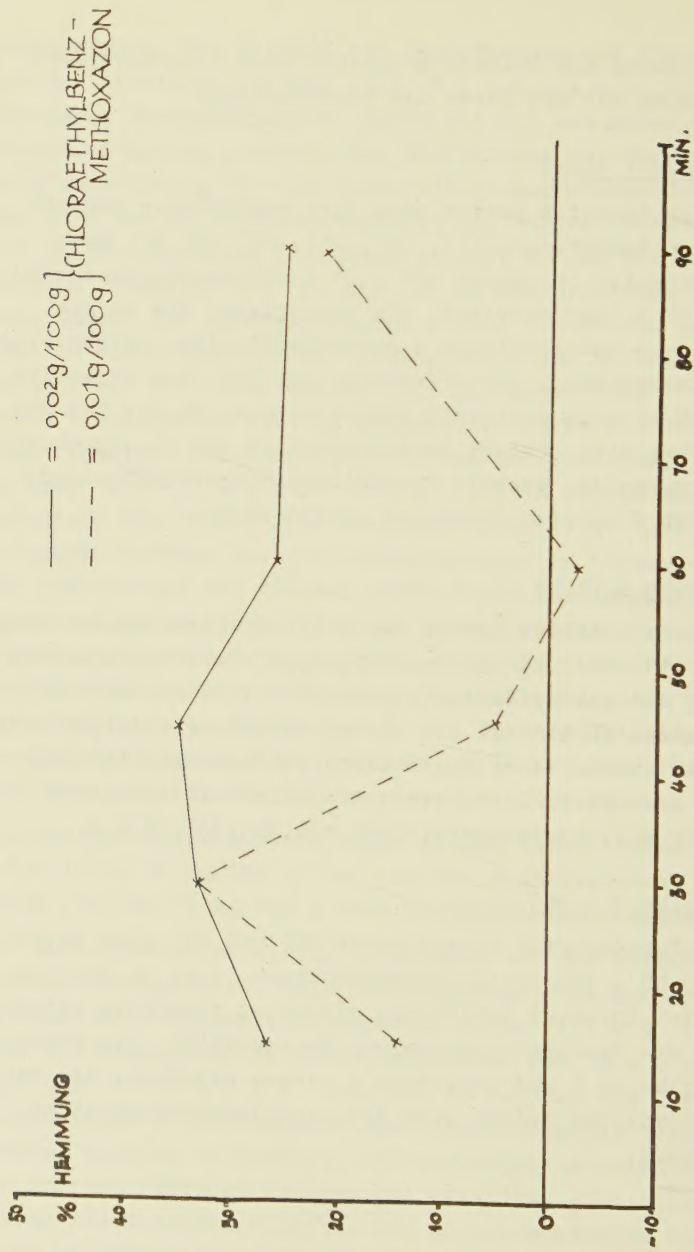


ABBILDUNG 1

Tabelle 1

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	15 ' nach	vor	15 ' nach
		0,01 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
1a (in- takte Ratten)	190	88	90	204	148
	203	76	68	184	124
	185	52	80	168	184
	240	80	92	252	216

Tabelle 2

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	30 ' nach	vor	30 ' nach
		0,01 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
1b (in- takte Ratten)	190	88	56	204	184
	203	76	68	184	120
	185	52	66	168	148
	240	80	76	252	184

Tabelle 3

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	45 ' nach	vor	45 ' nach
		0,01 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
1c (in- takte Ratten)	245	68	68	172	140
	182	56	60	172	180
	270	70	68	168	168
	192	70	66	200	200

Tabelle 4

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	60' nach	vor	60' nach
		0,01 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
1d	245	68	74	172	198
(in- takte Ratten)	182	56	62	172	152
	270	70	60	168	176
	205	60	60	160	156

Tabelle 5

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	90' nach	vor	90' nach
		0,01 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
1e	220	84	60	220	224
(in- takte Ratten)	192	70	76	200	144
	205	60	76	160	182
	193	80	76	276	184

Zeitpunkt	Farbstoff-Quaddel vor 0,01 g/100 g Chloräthylbenzoxazon i.p.			Farbstoff+Hyase-Quaddel vor nach			Tierzahl	Hyasehemmung	Sicherung
$\bar{x}$	74 mm ²	83 mm ²		202 mm ²	168 mm ²				
15' s ²	240	121		1.328	1.632		4	26.5%	-
s	15.5	11.0		36.5	40.4				
$\bar{x}$	74 mm ²	66 mm ²		202 mm ²	159 mm ²				
30' s ²	240	68		1.328	964		4	33.6%	5.0%
s	15.5	8.2		36.5	31.0				
$\bar{x}$	66 mm ²	65 mm ²		178 mm ²	172 mm ²				
45' s ²	45	14		219	629		4	5.4%	-
s	6.7	3.7		14.8	25.1				
$\bar{x}$	64 mm ²	64 mm ²		168 mm ²	171 mm ²				
60' s ²	43	45		32	446		4	-2.4%	-
s	6.5	6.7		5.6	21.1				
$\bar{x}$	74 mm ²	72 mm ²		214 mm ²	184 mm ²				
90' s ²	115	64		2.330	1.068		4	21.7%	-
s	10.7	8.0		48.3	32.7				

Tabelle 6 (intakte Ratten)

Tabelle 7

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	15' nach	vor	15' nach
		0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
2a (intakte Ratten)	160	80	76	216	144
	155	76	68	204	220
	185	82	88	180	186
	160	96	84	190	176

Tabelle 8

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	30' nach	vor	30' nach
		0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
2b (intakte Ratten)	160	80	72	216	168
	155	76	64	204	164
	185	82	72	180	148
	160	96	72	192	160

Tabelle 9

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	45' nach	vor	45' nach
		0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
2c (intakte Ratten)	180	68	72	224	144
	160	76	80	228	172
	170	76	68	196	192
	160	64	72	220	156

Tabelle 10

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel	Farbstoff+	
		vor 0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.	Hyaluronidasequaddel vor 60' nach	
2d (in- takte Ratten)	180	68	224	184
	160	76	228	188
	170	76	196	176
	160	64	220	168

Tabelle 11

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel	Farbstoff+	
		vor 0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.	Hyaluronidasequaddel vor 90' nach	
2e (in- takte Ratten)	180	68	224	148
	160	76	228	188
	170	76	196	192
	160	64	220	192

Zeitpunkt	Farbstoff-Quaddel vor 0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.	Farbstoff+Hyase-Quaddel vor nach	Tier- zahl	Hyase- hem- mung	Siche- rung
15'	$\bar{x}$ s ² s 84 mm ² 75 8*6 79 8*8	198 mm ² 240 15*5 182 mm ² 980 31*3	4	14*4%	-
30'	$\bar{x}$ s ² s 84 mm ² 76 8*7 70 mm ² 16 4*0	198 mm ² 240 15*5 160 mm ² 75 8*6	4	33*2%	1*0%
45'	$\bar{x}$ s ² s 71 mm ² 36 6*0 73 mm ² 25 5*0	217 mm ² 206 14*3 166 mm ² 432 20*8	4	34*9%	1*0%
60'	$\bar{x}$ s ² s 71 mm ² 36 6*0 - -	217 mm ² 206 14*3 179 mm ² 79 8*8	4	26*0%	1*0%
90'	$\bar{x}$ s ² s 71 mm ² 36 6*0 - -	217 mm ² 206 14*3 180 mm ² 459 21*4	4	25*3%	5*0%

Tabelle 12 (intakte Ratten)

Versuchsreihe 4 (a-b)

Die gleichen Versuche wie in der Versuchsreihe 3 (30' und 45' nach i.p. Injektion von 0,02 g Chloraethylbenzmethoxazon/100 g Tier) wurde bei hypophysektomierten Ratten durchgeführt. Sie führte zu dem Ergebnis, das in Tabelle 4 und Abbildung 2 dargestellt ist. Die Resultate zeigen, daß nach Hypophysektomie die bei adrenalektomierten Ratten ausfallende Hyaluronidasehemmung erhalten bleibt.

Berechnung und statistische Auswertung

Die Berechnung der Hyaluronidasehemmung geschah in der Weise, daß die Ausbreitung der reinen Farbstoffquaddel vor dem Versuch mit einer 100%igen Hemmung, die der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor dem Versuch mit einer 0%igen Hemmung gleichgesetzt wurde. Auf dem hierdurch festgelegten Maßstab wurde die Hemmung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zu verschiedenen Zeiten nach Einwirkung der betreffenden Substanzen bezogen.

Die Versuche in der Versuchsreihe verliefen für jedes Tier in 4 Versuchsstufen:

1. Versuchsstufe: Bestimmung der Ausbreitung einer reinen Farbstoffquaddel vor der Belastung;
2. Versuchsstufe: Bestimmung der Ausbreitung einer Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor der Belastung;
3. Versuchsstufe: Bestimmung der Ausbreitung einer reinen Farbstoffquaddel zum Zeitpunkt t nach der Belastung;
4. Versuchsstufe: Bestimmung der Ausbreitung einer Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zum Zeitpunkt t nach der Belastung.

Bei der statistischen Analyse der Versuchsergebnisse war zu prüfen, ob zwischen den einzelnen Versuchsstufen insgesamt Unterschiede bestehen und hieran anschließend, ob speziell zwischen den beiden reinen Farbstoffquaddeln bzw. zwischen den beiden Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln statistisch gesicherte Unterschiede bestehen.

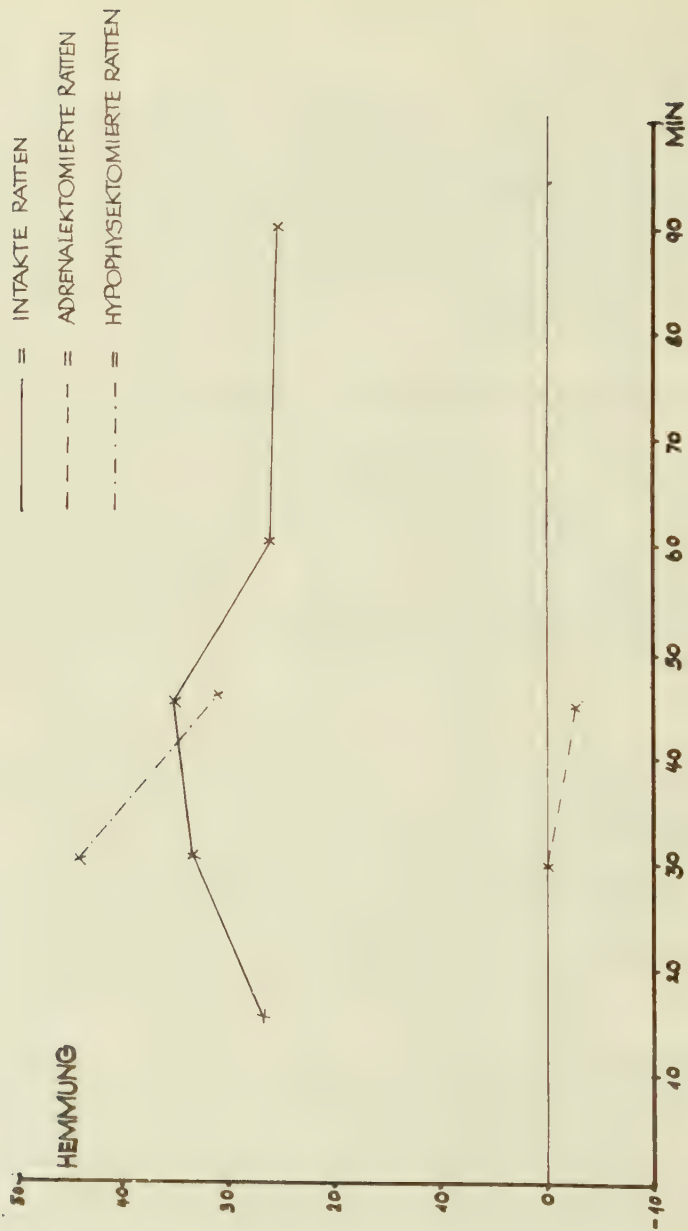


ABBILDUNG 2

Tabelle 13

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Hyaluronidasequaddel	
		vor	30' nach	vor	30' nach
		0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
3a	220	80	72	192	204
(adrenal- ektomierte Ratten)	210	80	76	185	186
	250	74	68	193	198
	135	77	78	201	184

Tabelle 14

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	45' nach	vor	45' nach
		0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
3b	220	80	70	192	208
(adrenal- ektomierte Ratten)	210	80	70	185	193
	250	74	68	193	163
	235	77	70	201	197

Zeitpunkt	Farbstoff-Quaddel vor 0,02 g/100 g Chloroethylbenz-methoxazon i.p.			Farbstoff+Hyase-Quaddel vor nach			Tier- zahl	Hyase- hem- mung	Siche- rung
30'	$\bar{x}$ s ² s	78 mm ² 8 2.8	74 mm ² 20 4.4	194 mm ² 42 6.5	194 mm ² 92 9.5		4	0.0%	-
45'	$\bar{x}$ s ² s	78 mm ² 8 2.8	70 mm ² 1 1.0	193 mm ² 42 6.5	190 mm ² 370 19.3		4	-2.2%	-

Tabelle 15 (adrenalektomierte Ratten)

Tabelle 16

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	30' nach	vor	30' nach
		0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
4a (hypophys- ektomierte Ratten)	160	76	80	208	164
	205	80	76	196	144
	180	84	80	208	140
	190	76	80	204	148

Tabelle 17

Versuchs- reihe	Tier- Gew. in g	Farbstoffquaddel		Farbstoff+ Hyaluronidasequaddel	
		vor	45' nach	vor	45' nach
		0,02 g/100 g Chloraethylbenzmethoxazon i.p.			
4b (hypophys- ektomierte Ratten)	160	76	76	208	156
	205	80	80	196	162
	180	84	80	208	174
	190	76	76	204	168

Zeitpunkt	Farbstoff-Quaddel vor 0,02 g/100 g Chloräthylbenz-methoxazon i.p.			Farbstoff+Hyase-Quaddel vor nach Chloräthylbenz-methoxazon i.p.			Tierzahl	Hyasehemmung	Sicherung
30'	$\bar{x}$	79 mm^2	79 mm^2	204 mm^2	149 mm^2		4	44.0%	1.0%
	s^2	15	4	32	111				
	s	3.9	2.0	5.6	10.5				
45'	$\bar{x}$	79 mm^2	78 mm^2	204 mm^2	165 mm^2		4	31.2%	1.0%
	s^2	175	5	32	60				
	s	13.2	2.2	5.6	7.7				

Tabelle 18 (hypophysektomierte Ratten)

Mittelwerte $\bar{x}$, Varianzen s^2 und Streuungen s der Meßwerte jeder Versuchsstufe, sowie die Zahl der Tiere und die prozentuale Hyaluronidasehemmung sind für jede Versuchsreihe in den Tabellen 6, 12, 15 u. 18 angegeben. In der letzten Spalte dieser Tabellen ("Sicherung") ist für die Versuchsreihen, bei denen die Hyaluronidasehemmung im weiter unten dargelegten Sinne statistisch gesichert werden konnte, die Irrtumswahrscheinlichkeit angeführt, mit der diese Sicherung behaftet ist.

Bei der statistischen Auswertung gingen wir von der Annahme aus, die Ausdehnung der Quaddeln einer Versuchsreihe sei zufälligen, (m, σ) -normalverteilten Schwankungen unterworfen. Von der Streuung σ dieser Normalverteilungen setzten wir außerdem voraus, daß sie von den Tieren und von den Versuchsstufen unabhängig sei. Eine Prüfung dieser Annahme mittels des Bartlett-Testes ergab, daß sie zulässig ist.

Die Erwartungswerte m der Normalverteilungen sahen wir als in additiver Weise abhängig 1.) vom Versuchstier und 2.) von der Versuchsstufe an. Dementsprechend machten wir den Ansatz

1) $m = a(Vt) + b(St)$,
in dem $a(Vt)$ eine nur von dem Versuchstier, $b(St)$ eine nur von der Versuchsstufe abhängige Größe bedeutet. Außerdem setzten wir noch voraus, daß $a(Vt)$ und $b(St)$ voneinander unabhängig seien.

Dieses statistische Modell liegt den von uns durchgeführten Varianz-Analysen zugrunde. Mit diesen prüften wir, ob zwischen den zu verschiedenen Versuchsstufen gehörigen Konstanten $b(St)$ statistisch gesicherte Unterschiede bestehen. Die in diesen Varianz-Analysen ermittelten Varianz-Komponenten der Gesamt-Varianz sind in den Tabellen 19 bis 32 in der üblichen Weise zusammengestellt.

Aus der Anlage der Versuche und auf Grund des statistischen Modells ergibt sich die "Rest-Varianz" als beste Schätzung der Varianz σ^2 der Normalverteilungen. Der Vergleich der "Varianz zwischen den Stufen" mit der "Rest-Varianz" mittels

des F-Test (Varianz-Quotienten-Test) ergibt für jede Versuchsreihe einen Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ (s. Tab. 19-32), der die 0,1%ige Sicherheitsgrenze der zugehörigen Prüfverteilung (F-Verteilung) weit überschreitet. Zwischen den einzelnen Versuchsstufen bestehen somit statistisch hochgesicherte Unterschiede; die Konstanten b (st) sind insgesamt wesentlich verschieden.

Zur Untersuchung der speziellen Frage, ob zwischen den reinen Farbstoff-Quaddeln bzw. zwischen den beiden Farbstoff+ Hyaluronidase-Quaddeln Unterschiede bestehen, führten wir einen von D u n c a n (31) zur simultanen Prüfung mehrer Mittelwertsdifferenzen im Anschluß an Varianz-Analysen, entwickelten Test durch. Es ergab sich:

1. Die beiden reinen Farbstoff-Quaddeln unterscheiden sich bei allen Versuchsreihen statistisch nicht wesentlich. Ein Einfluß der Medikamentation auf die Ausbreitung der Farbstoff-Quaddeln läßt sich somit nicht nachweisen.
2. Ein Unterschied in der Ausbreitung der beiden Farbstoff+ Hyaluronidase-Quaddeln konnte nicht bei allen Versuchsreihen statistisch gesichert werden. Diejenigen Versuchsreihen, bei denen eine Sicherung möglich war, sind durch Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit, mit der diese Sicherung behaftet ist, in den Tabellen 1-4 gekennzeichnet. Für diese Versuchsreihen kann ein Einfluß der Medikamentation auf den Hyaluronidase-Effekt, mit der jeweils angegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit, als statistisch erwiesen angesehen werden.

Tabelle 19 (Versuchsreihe 1a)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	48.039	16.013	29.44
Zwischen den Tieren	3	5.063	1.688	3.10
Rest-Varianz	9	4.900	544	
Gesamt-Varianz	15	58.002	3.867	

Tabelle 20 (Versuchsreihe 1b)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	52.430	17.476	42.94
Zwischen den Tieren	3	4.135	1.378	3.38
Rest-Varianz	9	3.666	407	
Gesamt-Varianz	15	60.229	4.015	

Tabelle 21 (Versuchsreihe 1c)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	47.815	15.938	87.57
Zwischen den Tieren	3	1.082	361	1.98
Rest-Varianz	9	1.641	182	
Gesamt-Varianz	15	50.538	3.369	

Tabelle 22 (Versuchsreihe 1d)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	44.534	14.845	168.69
Zwischen den Tieren	3	914	305	3.47
Rest-Varianz	9	788	88	
Gesamt-Varianz	15	46.236	3.082	

Tabelle 23 (Versuchsreihe 1e)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	65.369	21.790	27.48
Zwischen den Tieren	3	3.597	1.199	1.51
Rest-Varianz	9	7.137	793	
Gesamt-Varianz	15	76.103	5.074	

Tabelle 24 (Versuchsreihe 2a)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	47.674	15.891	38.02
Zwischen den Tieren	3	356	119	-
Rest-Varianz	9	3.766	418	
Gesamt-Varianz	15	51.796	3.453	

Tabelle 25 (Versuchsreihe 2b)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	45.073	15.024	163.30
Zwischen den Tieren	3	389	130	1.41
Rest-Varianz	9	830	92	
Gesamt-Varianz	15	46.292	3.086	

Tabelle 26 (Versuchsreihe 2c)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	62.331	20.777	107.65
Zwischen den Tieren	3	363	121	-
Rest-Varianz	9	1.737	193	
Gesamt-Varianz	15	64.431	4.295	

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	2	45.899	22.950	257.87
Zwischen den Tieren	3	431	144	1.62
Rest-Varianz	6	533	89	
Gesamt-Varianz	11	46.863	4.260	

Tabelle 27 (Versuchsreihe 2d)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	2	46.088	23.044	85.03
Zwischen den Tieren	3	480	160	-
Rest-Varianz	6	1.624	271	
Gesamt-Varianz	11	48.192	4.381	

Tabelle 28 (Versuchsreihe 2e)

Tabelle 29 (Versuchsreihe 3a)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	55.015	18.338	382*04
Zwischen den Tieren	3	61	20	-
Rest-Varianz	9	428	48	
Gesamt-Varianz	15	55.515	3.701	

Tabelle 30 (Versuchsreihe 3b)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	55.727	18.576	195*54
Zwischen den Tieren	3	413	138	1*45
Rest-Varianz	9	854	95	
Gesamt-Varianz	15	56.994	3.800	

Tabelle 31 (Versuchsreihe 4a)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	44.075	14.692	376.72
Zwischen den Tieren	3	131	44	1.13
Rest-Varianz	9	353	39	
Gesamt-Varianz	15	44.559	2.971	

Tabelle 32 (Versuchsreihe 4b)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}
Zwischen den Stufen	3	47.988	15.996	213.28
Zwischen den Tieren	3	142	47	-
Rest-Varianz	9	674	75	
Gesamt-Varianz	15	48.804	3.254	

Diskussion

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die geprüfte Substanz Chloraethylbenzmethoxazon eine statistisch zu sichernde hyaluronidasehemmende Wirkung entfaltet. Weiter zeigen die Befunde, daß der Wirkungsmechanismus den gleichen Abläufen folgt, wie sie von M a t h i e s (1-5) und Mitarb. (6-9) für Acetylsalicylsäure, Glukokortikoide, Phenylbutazon und auch Moorbäder aufgezeigt wurden. Es wurde bereits erwähnt, daß D o m e n j o z (10) nachweisen konnte, daß bei Acetylsalicylsäure und anderen hyaluronidasehemmenden Substanzen die bei intakten Ratten festzustellende Abnahme des Ascorbinsäure- und Cholesteringehaltes der Nebennieren bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt. Da jedoch dieser Depletionseffekt als Ausdruck der inkretorischen Aktivität der Nebennierenrinde zu werten ist und da die Hyaluronidasehemmung unter allen von M a t h i e s (1-5) u. Mitarb. (6-9) bisher geprüften Substanzen bei hypophysektomierten Tieren trotz fehlenden Depletionseffektes erhalten ist, muß daraus geschlossen werden, daß ein nebennierenrindenaktivierender Effekt wohl vorhanden sein mag, daß dieser aber für das Zustandekommen der in vivo-Hyaluronidasehemmung nicht maßgebend sein kann. Auf der anderen Seite ist aber, wie die Versuche an adrenalektomierten Tieren zeigen, die Anwesenheit der Nebenniere notwendig, damit eine Hyaluronidasehemmung auftritt. Es blieb also die Annahme, daß eine Nebennierenmark-Funktion die Hyaluronidasehemmung der betreffenden Substanzen bewerkstelligt. M a t h i e s (2,15,16) u. Mitarb. (6,17) haben nun nachweisen können, daß sowohl Adrenalin als auch Noradrenalin bei adrenalektomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung hervorrufen. Demnach müßte eine Katecholaminausschüttung aus der Nebenniere unter den hyaluronidasehemmenden Substanzen nachweisbar sein, was M a t h i e s (3,4,18,19) und Mitarb. (20-24) auch bereits für Acetylsalicylsäure, Hydrocortison, Phenylbutazon und Moorbäder zeigen konnten.

Ein Nachweis der bei intakten Ratten vorhandenen Ascorbinsäure- und Cholesterindepletion unter Chloraethylbenzmethoxazon, die bei hypophysektomierten Tieren ausbleibt, liegt noch nicht vor.

Er erscheint zum Nachweis des Wirkungsmechanismus der Hyaluronidasehemmung im Zusammenhang mit den hier vorgelegten Befunden auch nicht erforderlich, da v. W e r t h e r (32) durch Bestimmungen des Nebennieren-Gehaltes an Katecholaminen bereits eine Katecholaminausschüttung aus der Nebenniere durch Chloraethylbenzmethoxazon nachweisen konnte. Im Rahmen der bereits vorliegenden Untersuchungen besagen demnach die hier aufgezeigten Ergebnisse, daß die nachgewiesene hyaluronidasehemmende Wirkung des Chloraethylbenzmethoxazon über eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark zustandekommt.

Ein gewisses Interesse beanspruchen auch die Ergebnisse der Hyaluronidasehemmung durch die in den Vorversuchen applizierten geringen Chloraethylbenzmethoxazon-Dosen von 0,01 g/100 g Tier. Das Maximum der Hyaluronidasehemmung liegt etwa in gleicher Höhe, unterschiedlich ist lediglich der Wirkungseintritt, die Dauer der Hyaluronidasehemmung oder besser gesagt, der Wirkungsablauf. Wir sahen nämlich, daß am Ende der Versuchsdauer (90 Min. nach Applikation von 0,01 g Chloraethylbenzmethoxazon) ein erneuter Anstieg erfolgt, wenn auch eine statistische Sicherung dieses Wertes nicht vorliegt. Aus anderen Untersuchungen von V o g e l (33) und W e i s s (34) am Menschen wissen wir, daß der Ablauf der Hyaluronidasehemmung in einer Schwingungskurve verläuft, so daß nach der Rückkehr auf die Ausgangswerte, u.U. sogar über eine negative Phase, erneute Anstiege der Hyaluronidasehemmung erfolgen. Die Kurve pendelt erst langsam über längere Zeit im Sinne eines Regulationsverhaltens aus. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache läßt sich nicht sagen, ob die Hyaluronidasehemmung durch 0,01 g gegenüber 0,02 g Chloraethylbenzmethoxazon auch im weiteren Verlauf geringer ist. Die hier gefundenen Werte der Hyaluronidasehemmung durch die geringe Dosis von 0,01 g entsprechen in gewisser Hinsicht den Verhältnissen, wie M a t h i e s (16) und S c h e u f e l e (17) sie bei geringeren Katecholamindosen gegenüber höheren gefunden haben. Es würde dieses bedeuten, daß vielleicht die geringe Chloraethylbenzmethoxazon-Dosis auch eine geringere aber u.U. noch

voll wirksame Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark bedingen würde. Jedoch läßt sich der weitere Verlauf auch hier nicht abschätzen, da sich verschiedene Effekte überlagern. Es dürfte die Katecholaminausschüttung, vor allem nach den Versuchen von M a t h i e s (35) und S c h l i e r f (8) sowie nach noch nicht veröffentlichten Versuchen von M a t h i e s (36) und Mitarb. (33,34), selbst sozusagen in Schüben verlaufen, wobei jede Katecholaminausschüttung in ihrer Nachwirkung eine schubweise Hyaluronidasehemmung bedingt. Versuche über diesen Gesamtablauf sind bei Ratten nicht möglich, da wegen der Kleinheit der Versuchstiere Messungen über längere Zeit ausgeschlossen sind. Wegen der starken individuellen Abweichungen sind jedoch Untersuchungen am gleichen Individuum erforderlich.

Zusammenfassung

Es wurde an Rattenversuchen die hyaluronidasehemmende Wirkung einer neuen chemischen Substanz 2-(β -Chloräthyl)-2,3-dihydro-4-oxo-(benzo-1,3-oxazin) (chemische Kurzbezeichnung Chloräthylbenzmethoxazon) nachgewiesen. Der Ausfall der Hyaluronidasehemmung bei adrenaletomierten sowie das Erhaltenensein der Hemmung bei hypophysektomierten Ratten deutet im Zusammenhang mit von D o m e n j o z bei anderen hyaluronidasehemmenden Substanzen gefundenen Verhältnissender Ascorbinsäure- und Cholesterin-Depletion bei hypophysektomierten Ratten darauf hin, daß eine Funktion des Nebennierenmarkes die Hyaluronidasehemmung auch durch Chloräthylbenzmethoxazon zuwege bringt. Diese Annahme erscheint durch den von M a t h i e s und v. W e r t h e r geführten Nachweis einer Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark durch Chloräthylbenzmethoxazon gesichert. Unterschiede im Ablauf der hyaluronidasehemmenden Wirkung durch verschiedene Dosen des Chloräthylbenzmethoxazon werden kurz diskutiert.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H. : Arzneim. Forsch. 8 (1958), 233
- 2) Mathies, H. u. Jankowski, A. : Klin. Wschr. 35 (1957), 892
- 3) Mathies, H. : in Vorbereitung
- 4) Mathies, H. : Zschr. f. ges. exper. Med. im Druck
- 5) Mathies, H. u. Werther, G.v. : Zschr. f. angew. Bäder- u. Klimaheilk. 5 (1958), 503
- 6) Jankowski, A. : Diss. München 1957
- 7) Hartmann, M. : Diss. München in Vorbereitung
- 8) Schlierf, G. : Diss. München in Vorbereitung
- 9) Rösch, U. : Diss. München in Vorbereitung
- 10) Domenjoz, R. : Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 225 (1955), 14
- 11) Mathies, H. : in-Vorbereitung
- 12) Schmidt, D. : Diss. München in Vorbereitung
- 13) Poulantzas, J. : Diss. München 1958
- 14) Lingnau, W. : Diss. München in Vorbereitung
- 15) Mathies, H. : Ärzt. Forsch. 12 (1958) I/87
- 16) Mathies, H. : Klin. Wschr. eingereicht
- 17) Scheufele, R. : Diss. München 1958
- 18) Mathies, H. : Med. Mschr. 11 (1957), 791
- 19) Mathies, H. : Zschr. f. Rheumaforsch. 17 (1958), 375
- 20) Kuepach, M. v. : Diss. München 1958
- 21) Biechele, I. : Diss. München in Vorbereitung
- 22) Wiesmüller, J. : Diss. München in Vorbereitung
- 23) Kaiser, I. : Diss. München 1958
- 24) Kadatz, R. : Arzneim. Forsch. 7 (1957), 651
- 25) Beisenherz, G., Ohnacker, G., Ackermann, A. u. Kaiser, A. : Arzneim. Forsch. 7 (1957), 633
- 26) Wilhelmi, G. : zit. Domenjoz (10)
- 27) Madinaveitia, J. : Biochem. J. 32 (1938), 1806
- 28) Karg, H. : persönliche Mitteilung, noch nicht veröffentlichte Untersuchungen

- 29) Bachmann, R. : Handbuch der mikroskopischen Anatomie
des Menschen VI/5 (1954), 222 ff.,
Springer, Berlin/Göttingen/Heidelberg
- 30) Canalis, P. : Intern. Mschr. Anat. 4 (1887a), 312,
zit. Bachmann (30)
- 31) Duncan, D.B. : Multiple Range and Multiple F-Tests,
Biometrics, Vol. 11, S. 1
- 32) Werther, G. v. : Diss. München 1958
- 33) Vogel, M. : Diss. München in Vorbereitung
- 34) Weiß, G. : Diss. München in Vorbereitung
- 35) Mathies, H. : in Vorbereitung
- 36) Mathies, H. : in Vorbereitung

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas. Herrn Dr. H. Mathies danke ich für die Anregungen zu dieser Arbeit und für die laufende Beratung, sowie Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich für die statistischen Berechnungen. Die Firma Dr. Karl Thomae GmbH. stellte uns die geprüfte Substanz unter der Versuchsbezeichnung Ap 67 freundlicherweise zur Verfügung.

L e b e n s l a u f

Ich, Ursula Gerson geb. Mann, wurde am 27.10.1933 als Tochter des Kaufmanns Walter Mann und seiner Ehefrau Gertrud geb. Fischer in Stuttgart geboren.

Besuchte von 1939 bis 1943 die Grundschule in Stuttgart - Bad Cannstatt und von 1943 bis zum Abitur am 10.2.1953 die Oberschule für Mädchen in Stuttgart - Bad Cannstatt. Studierte vom Sommersemester 1953 bis zum Wintersemester 1955/56 an der Universität München und legte am 2.3.1956 die ärztliche Vorprüfung ab. Weiterhin war ich im Sommersemester 1956 an der Universität Tübingen, vom Wintersemester 1956/57 bis zum Sommersemester 1958 an der Universität München und im Wintersemester 1958/59 an der Universität Göttingen.

Am 3.4.1958 heiratete ich Herrn cand.med. Peter Gerson.

CHAPTER I

The first part of the book is devoted to a general survey of the history of the world, from the beginning of time to the present day. The author discusses the various stages of human development, from the earliest forms of life to the modern era. He also examines the different civilizations that have arisen throughout history, and the factors that have influenced their growth and decline. The second part of the book is a detailed account of the events of the last few centuries, from the Renaissance to the present. The author describes the various revolutions, wars, and social movements that have shaped the modern world. He also discusses the current state of the world, and the challenges that it faces. The book is written in a clear and concise style, and is suitable for both students and general readers. It is a valuable source of information and insight into the history of the world.

In the third part of the book, the author discusses the future of the world, and the role of humanity in shaping it. He examines the various theories of the future, and the factors that will influence the course of human development. The book is a comprehensive and authoritative work on the history of the world, and is a must-read for anyone interested in the subject.

